Journal of Horticultural Science
Vol. 35, No.3, Fall 2021, P. 367-381
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۰، ص. ۳۸۱-۳۶۷
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

مقاله پژوهشی

تأثیر محلول‌پاشی براسینواستروئید بر گیاهچه فلفل دلمه‌ای (*Capsicum annuum* L.) تحت تنش خشکی

سعید خسروی[1*]- مریم حقیقی[2]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۷/۲۲

چکیده

هورمون‌های گیاهی نقش موثری بر رشد و توسعه گیاهان و افزایش مقاومت به تنش‌ها دارند، براسینواستروئیدها از هورمون‌های گیاهی می‌باشند که به صورت موثری مقاومت به تنش خشکی را در محصولات زراعی و باغی افزایش می‌دهند. بنابراین در پژوهشی، تأثیر براسینواستروئید (BR) بر غلظت پرولین، آمینواسید، پروتئین، محتوای آبسیزیک‌اسید در گیاه فلفل دلمه‌ای تحت تنش خشکی مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی بر روی گیاه فلفل دلمه‌ای (*Capsicum annuum* L.) رقم 'Castello' چهار تیمار خشکی با استفاده از محلول پلی‌اتیلن‌گلیکول ۶۰۰۰ در چهار سطح صفر، ۶-، ۷-و ۸- بار اعمال شد. براسینواستروئید در دو سطح شاهد و ۱ میکرومولار به حالت محلول‌پاشی استفاده شد. نتایج نشان داد با افزایش شدت تنش خشکی وزن تر (۴۱ درصد) و خشک ساقه (۶۶ درصد) کاهش یافت و شدت اثر مخرب تنش در ساقه با کاربرد براسینواستروئید، در تنش ملایم بیشتر بود اما در ریشه در همه سطوح تنش با روند یکسانی کاهش اثرات مخرب را نشان داد. کاربرد براسینواستروئید باعث کاهش شاخص‌های تنش ازجمله پرولین (۷ درصد) و آبسزیک‌اسید (۵۰ درصد) شد و این کاهش در میزان پرولین بخصوص در سطوح بالاتر تنش بیشتر بود. میزان اسیدآمینه و پروتئین با تنش خشکی کاهش یافت و کاربرد براسینواستروئید نتوانست به طور موثری از این کاهش خصوصاً در مورد ترکیبات و میزان آمینواسید موثر باشد. به طور کلی به نظر می‌رسد کاربرد براسینواستروئید در غلظت ۱ میکرومولار موجب کاهش اثرات منفی تنش و حفظ خصوصیات رویشی گیاهچه‌های فلفل دلمه‌ای تحت تنش خشکی می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: اسیدآبسیزیک، آمینواسید، تنظیم‌کننده‌های رشد، فلورسانس کلروفیل

مقدمه

هورمون‌های طبیعی و مصنوعی، تنظیم‌کننده‌های رشد محسوب می‌شوند که در تنظیم و کنترل فرایندهای رشد و فیزیولوژی، افزایش مقاومت به تنش‌ها، بهبود عملکرد و کیفیت گیاه نقش موثر دارد (۲۹). تنظیم‌کننده‌های رشد به گروه اکسین‌ها، سیتوکینین‌ها، جیبرلین‌ها، اسیدآبسیزیک و اتیلن طبقه‌بندی می‌شوند اما ترکیباتی مانند جاسمونات‌ها، سالیسیلیک‌اسید و براسینواستروئیدها هم در گروه هورمون‌های گیاهی قرار می‌گیرند (۲۹). براسینواستروئیدها، ششمین گروه از هورمون‌های گیاهی بوده که دارای تأثیرات بیولوژیکی منحصر بفردی در رشد و توسعه گیاهان از جمله طویل شدن سلول، توسعه آوندی، پیری، کنترل گلدهی و پاسخ به تنش می‌باشند (۱۵). براسینواستروئیدها ترکیبات استروئیدی گیاهی با فعالیت گسترده بیولوژیکی هستند که توانایی افزایش عملکرد گیاهان را از طریق تغییرات متابولیسمی گیاه و حفاظت آنها در برابر تنش‌های محیطی دارند. بسیاری از مطالعات نشان می‌دهد که این هورمون اثر ضد تنشی در کاربرد برون‌زاد برای گیاهان دارد (۱۵). براسینواستروئیدها رشد و توسعه گیاه را به روش‌های مختلفی تحت تأثیر قرار داده و موجب بهبود تحمل تنش در گیاه می‌شوند (۴).

براسینولید رشد گیاهان را از طریق افزایش برخی از فعالیتهای متابولیکی مانند فتوسنتز، بیوسنتز اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها و کربوهیدارت‌ها افزایش می‌دهند بنابراین افزایش عملکرد و شاخص‌های کیفی محصولات غذایی با مصرف مناسب و به موقع تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی قابل حصول است (۳۳). لی و فنگ نشان

۱ و ۲- به‌ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان
(*- نویسنده مسئول: Email: saeedkhosravi0938@gmail.com)
DOI: 10.22067/jhs.2021.61838.0

دادند (۲۰) که مصـرف براسـینولید می‌تواند از طریق افزایش محتوای آب نسـبی، قندهای محلول، پروتئین، پرولین، کاتالاز، پراکسـیداز و سوپراکسیددیسموتاز اثرات تنش رطوبتی را در گیاهچه‌های یک گیاه زینتی (*Xanthoceras sorbifolia*) کـاهش داده و مقاومت آن را به تنش خشـکی افزایش دهد (۳۷). در گزارشی اعلام کردند که مصرف براسینواستروئید در گلخانه و مزرعه عملکرد گندم، سیب‌زمینی، برنج و کلزا را به میزان زیادی افزایش داد و همچنین کیفیت دانه حاصـل از گیاه بادام زمینی که با این هورمون تیمار شـده بود نیز افزایش یافت (۳). گزارش‌هـایی مبنی بر افزایش عملکرد کاهو، تربچه، لوبیا و فلفل در اثر کاربرد هورمون ۲۴- اپی‌براسینولید وجود دارد و کاربرد این ماده در غلظت ۱ میکرومولار موجب افزایش عملکرد و کاهش ریزش میوه شده است (۲۳ و ۲۴).

تنش کم‌آبی بـا تـأثیر نـامناسـبی که بر ورود دی‌اکسـیدکربن می‌گذارد، ظرفیت پذیرش و انتقال الکترون را کاهش داده و در نتیجه سـیسـتم به سـرعت به فلورسـانس حداکثر می‌رسد؛ که منجر به افت فلورسـانس متغیر خواهد شـد. از طرفی با افزایش شـدت نور سـیستم فتوسنتزی با یک روش تنظیمی برای کاهش انرژی القا شده تحریکی، انرژی مازاد را به طریق افزایش خاموشـی غیرفتوشـیمیایی به صورت فرایند غیرتشـعشـعی از دسـت می‌دهد. با این سـازوکار تنظیم، ضمن حفاظت از مرکز واکنش، موجب حداقل شـدن صـدمه به این مرکز می‌گردد (۴). برای تحمل تنش کم‌آبی سـازوکارهای مقاومت و تحمل در گیاهان توسـعه یافته است. یکی از راه‌های مقابله و تطابق، استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی است (۳۰). اولین بار براسینواستروئیدها از دانه گرده گیاه شلغم (*Brassica napus*) استخراج (۱۰) و به عنوان ششمین گروه از تنظیم کننده‌های رشد گیاهی در نظر گرفته شد (۳۰). این ترکیبات موجب تحریک رشـد و تقسـیم سـلولی شـده (۳۵) و بر خصـوصـیات الکتریکی، نفوذپذیری غشا، پایداری و فعالیت آنزیم‌های غشا اثر می‌گذارند. امروزه براسینواستروئید از گیاهان مختلف استخراج و ساختمان و عملکرد آنها شناسایی شده است (۱۵). براسینواستروئیدها تحمل گیاهان را در محدوده وسـیعی از استرس‌های محیطی افزایش داده‌اند و این افزایش عموماً وابسـته به تولید و رونویسـی ژن‌های ضد تنش از جمله پروتئین‌های شـوک گرمایی بوده که نشـانگر افزایش رونویسـی ژن‌های مسـئول پاسخ به استرس برای بالا بردن تحمل به اسـترس در درون گیاهان تیمار شـده به وسـیله براسینواستروئید بوده اسـت (۱۷). لذا هدف از انجام این آزمایش بررسی اثر براسینواستروئید در کاهش احتمالی اثرات تنش خشـکی بر گیاه فلفل دلمه‌ای و بررسـی خصوصیات کمی و کیفی آن بود.

مواد و روش‌ها

نحوه آماده‌سازی مواد آزمایشی و اعمال تیمار

این آزمایش به صـورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی بر روی گیـاه فلفل دلمه‌ای (*Capsicum annuum* L.) رقم 'Castello' تحت شـرایط دمای متوسـط روزانه ۲۵ درجه سـانتی‌گراد و شبانه ۱۸ درجه سـانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۵ درصد در گلخانه‌های تحقیقاتی دانشـکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان (عرض جغرافیایی ″۱۸ ′۷ °۲۳ شـمالی، عرض جغرافیایی ″۲ ′۵۳ °۵۱ شرقی) با تیمارهای خشکی در چهار سـطح صـفر، ۶-، ۷- و ۸- بار و تیمار براسینواستروئید در دو سـطح شـاهد و ۱ میکرومولار به حالت محلول‌پاشـی با ۵ تکرار انجام شد.

بذرهای فلفل دلمه‌ای رقم 'Castello' در سـینی نشا حاوی بستر پرلایت و ورمی‌کولایت با نسـبت حجمی ۱ به ۲ کشت گردید. پس از چهار هفته و هنگامی که برگ حقیقی نهال‌ها ظاهر شـد، با شستشوی کامل ریشه به کمک آب مقطر به ظروف پلاستیکی سیاه رنگ با قطر ۱۶ و ارتفاع ۱۳ سانتی‌متر و حجم ۱ لیتر حاوی محلول غذایی جانسون (حاوی هر یک از چهار تیمار خشـکی انتقال یافت. لازم به ذکر اسـت تنش خشکی به‌وسـیله پلـی‌اتـیلن‌گلایکـول ۶۰۰۰ مطابق با روش میچل و کافمن در دمای ۲۵ درجه‌سـانتی‌گراد در شـرایط گلخانه‌ای اعمال گردید (۲۶) و در تیمار شـاهد هر ۱۵ دقیقه، به مدت ۵ دقیقه هوادهی گردید.

فاکتورهای اندازه‌گیری‌شده

جهت اندازه‌گیری وزن تر و خشک، در پایان آزمایش پس از خارج کردن گیاهان از ظروف پلاستیکی ریشه آن‌ها توسط آب مقطر شسته شـد و توسط چاقو اندام هوایی و ریشه جدا گردید و به کمک ترازویی دیجیتال وزن تر توزین شـد. سپس شاخساره و ریشه بطور جداگانه در پاکت‌های کاغذی قرار گرفتند و به مدت ۴۸ سـاعت در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید و سپس با ترازوی دیجیتال توزین شدند.

به منظور اندازه‌گیری کارآیی کوانتومی فتوسـیسـتم II (Fv/Fm)، به مدت ۲۰ دقیقه برگ گره‌های میانی به وسـیله گیره‌های مخصوص در تاریکی قرار داده شـدند و پس از آن Fv/Fm با اسـتفاده از دستگاه فلورسـانس‌سـنج (مدل OS- 30 سـاخت کشور انگلستان) اندازه‌گیری شد.

به منظور اندازه‌گیری میزان سبزینگی برگ از جوان‌ترین برگ‌های بالغ بوته اسـتفاده شـد به طوری‌که از هر گیاه سـه قرائت بر روی سه برگ مجزا (درمجموع ۹ قرائـت در هر تکرار) توسـط دسـتگـاه کلروفیل‌سنج (SPAD-502 plus, Minolta, Japan) انجام و سپس میانگین آن ثبت شد.

برای اندازه‌گیری پروتئین از روش بردفورد اسـتفاده شـد. پس از تهیه نمونه‌ها از برگ گیاهان فلفل عصـاره گیاهی اسـتخراج و معرف بردفورد به آن اضافه گردید و پس از گذشت ۲۰ دقیقه میزان جذب در طول‌موج ۵۹۵ نانومتر توسـط دسـتگاه اسـپکتوفتومتر (-UV 160A

Shimadzu Corp., Kyoto, Japan) قرائت شد و براساس مقایسه با منحنی استاندارد، غلظت پروتئین برحسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آمد (۸).

اندازه‌گیری غلظت پرولین به این شکل انجام شد که برای تهیه محلول‌های پرولین استاندارد از پرولین خالص استفاده گردید. جهت کالیبره کردن دستگاه اسپکتروفتومتر از غلظت‌های مختلف پرولین و از تولوئن خالص به عنوان شاهد استفاده شد و منحنی استاندارد رسم گردید. میزان جذب در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UV 160A- Shimadzu Corp., Kyoto, Japan) پس از تهیه نمونه‌ها انجام شد و غلظت پرولین نمونه‌ها برحسب میکرومول در گرم وزن‌تر نمونه محاسبه و بیان گردید (۶).

اندازه‌گیری محتوای آبسیزیک اسید یک گرم بافت برگ تازه، با متانول ۸۰ درصد و ۰/۱ گرم پلی‌وینیل پیرولیدون در ۴۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ و محلول رویی جدا شد و متانول توسط خلاء تبخیر و به آن اتیل‌استات اضافه و اسیداستیک اضافه و به ستون فازمعکوس (Diamonsic, C_{18}, 5µm) به طول ۲۵ سانتی‌متر و قطر ۴/۶ میلی‌متر در دستگاه HPLC (Unicam-Crystal-200, UK) تزریق شد. فاز متحرک گرادیان متانول–اسیداستیک (۳- ۹۷ درصد) با سرعت چهار میلی‌لیتر در دقیقه به همراه دتکتور diode array استفاده شد (۱۱).

برای سنجش اسیدهای‌آمینه، مقدار ۰/۳ گرم بافت تر با اتانول ۸۰ درصد دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. سپس محلول رویی درون دستگاه تغلیظ کننده درجه قرار داده و سپس۲۰۰ میکرولیتر بافر بورات و در نهایت ۱۰۰ میکرولیتر OPA اضافه گردید و با سرنگ مخصوص، به دستگاهHPLC با ستونHALO، C18 ۵ سانتی‌متری (دمای ستون ۲۵ درجه سانتی‌گراد) و فازهای متحرک (حلال‌ها) با شدت جریان ۱/۱ میلی‌لیتر بر دقیقه، تزریق شد. و با تعیین رابطه غلظت و سطح زیر منحنی، منحنی استاندارد رسم شده و مقادیر کمی هر اسیدهای‌آمینه محاسبه شد (۱۹). داده‌ها در نرم‌افزار اکسل طبقه‌بندی و با برنامه آماری Statestix 8 آنالیز شدند و مقایسه میانگین داده‌ها به کمک آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج آنالیز تجزیه واریانس و اثرات اصلی کاربرد براسینواستروئید و تنش خشکی در فلفل دلمه‌ای

جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که براسینواستروئید بر همه صفات رویشی به جز حجم و وزن ریشه و کلیه صفات فیزیولوژیک به جز فلورسانس کلروفیل اثر معنی‌داری نداشت و صفات ذکر شده با کاربرد یک میلی‌مولار براسینواستروئید افزایش نشان داد در حالی‌که اثرات اصلی خشکی به جز اسیدآمینه و اثرات متقابل خشکی و براسینواستروئید بر کلیه صفات معنی‌دار بود (جداول ۱ و ۲).

نتایج اثرات اصلی خشکی نشان داد که براسینواستروئید ۱ میکرومولار به‌ترتیب به میزان ۷/۰۱ و ۱۳/۰۵درصد وزن تر و حجم ریشه بیشتری نسبت به شاهد را موجب شد در حالی‌که بر سایر صفات رویشی تاثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۳). وزن تر ریشه در تنش شدید ۸- بار (۲۶/۸۷ درصد کاهش نسبت به شاهد) و وزن خشک با تنش ۷- بار (۲۹/۶۲ درصد کاهش نسبت به شاهد) شروع به کاهش معنی‌دار کرد در حالی‌که وزن تر و خشک قسمت هوایی بوته از تنش‌های کمتر یعنی از ۶- بار شروع به کاهش نشان داد از طرفی به نظر می‌رسد طول و حجم ریشه با شروع تنش از ۶- بار و طول بوته نیز با اولین سطح تنش کاهش یافت. وزن خشک بوته در ۸- بار با ۱۸۶/۴۸ درصد، حجم ریشه با ۳۰/۱۸ درصد، طول ریشه با ۱۶/۰۶ درصد بیشترین میزان کاهش را نسبت به تیمار شاهد داشت (جدول ۳).

براسینواستروئید ۱ میکرومولارموجب افزایش ۷/۰۶ درصدی میزان کلروفیل فلورسانس نسبت به تیمارشاهد گردید در حالیکه بر سایر شاخص‌های تنش خشکی اثر معنی‌داری نداشت (جدول ۴). تنش خشکی در سطح ۶- بار باعث کاهش کلروفیل فلورسانس، شاخص کلروفیل و افزایش اسیدآبسیزیک شد در حالی‌که از سطح ۷- بار باعث کاهش پروتئین و افزایش پرولین شد (جدول ۴).

میزان اسیدآمینه‌های سولفوردار، ضروری، غیرضروری با اعمال تنش خشکی به شدت کاهش یافت و کاربرد براسینواستروئید اثری بر آن نداشت. میزان آمینواسید کل با تنش خشکی کاهش یافت اما با کاربرد براسینواستروئید تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت (جدول ۵).

تغییرات رشدی گیاه فلفل با کاربرد براسینواستروئید در تنش خشکی

با افزایش سطح تنش طول ریشه و طول بوته کاهش یافت و کاربرد براسینواستروئید به حفظ طول ریشه در کلیه سطوح تنش خشکی و حفظ طول بوته در سطوح پایین‌تر تنش کمک کرد (شکل ۱ a، b).

وزن تر ریشه و ساقه با افزایش شدت تنش کاهش یافت با کاربرد براسینواستروئید در سطوح ۶- بار در شرایط تنش بهتری حفظ شد اما در شدت بالای تنش (۸- و ۷- بار) اثری بر وزن تر بوته نداشت (شکل ۲ a، b). روند مشابهی در وزن خشک ریشه و ساقه مشاهده شد به این شکل که با کاربرد براسینواستروئید تغییر محسوسی در وزن خشک ریشه دیده نشد اما به حفظ وزن تر ساقه خصوصاً در سطوح ملایم تنش خشکی (۶- بار) پرداخت (شکل ۲ c و d).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثرتیمارهای براسینواستروئید و خشکی بر صفات رویشی گیاه فلفل دلمه‌ای رقم 'Castello'

Table 1- ANOVA for the effect of brassinosteroid and drought treatments on vegetative traits of sweet pepper cv. 'Castello'

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی df	وزن خشک ریشه Root dry weight	وزن خشک بوته Shoot dry weight	وزن تر ریشه Root fresh weight	وزن تر بوته Shoot fresh weight	حجم ریشه Volume root	طول ریشه Length root	طول بوته Length shoot
براسینواستروئید Brasinosteroid	1	0.00002^{ns}	0.015^{ns}	0.236**	0.000.70^{ns}	0.8437**	1.401^{ns}	1.306^{ns}
خشکی Drought	3	0.207**	0.259**	0.220**	0.235**	0.232**	2.606**	8.854**
براسینواستروئید× خشکی Brasinosteroid×Drought	3	0.229**	0.263**	0.268**	0.288**	0.293**	2.752**	8.514**
خطا Error	32	0.143	0.194	0.139	0.154	0.117	0.994	4.158
ضریب تغییرات C.V (%)		28.67	23.50	6.75	12.91	11.05	10.32	12.71

^{ns} غیرمعنی‌دار، ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و * معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد.

^{ns}: non-significant, **: significant at 1% of probability level, and *: significant at 5% of probability level.

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر تیمارهای براسینواستروئید و خشکی بر برخی صفات فیزیولوژیکی گیاه فلفل دلمه‌ای رقم 'Castello'

Table 2- Analysis of variance of the effects of brassinosteroid and drought treatments on physiological traits of sweet pepper cv. 'Castello'

منابع تغییرات Sources of variation	df	اسیدآبسیزیک ABA	پروتئین Protein	امینو اسید Amino acid	پرولین Proline	شاخص کلروفیل Chlorophyll Index	فلورسانس کلروفیل Chlorophyll fluorescence
براسینواستروئید Brasinosteroid	1	1.306^{ns}	10.96^{ns}	0.135^{ns}	1.368^{ns}	1.500^{ns}	0.019**
خشکی Drought	3	18.563**	3039**	0.176^{ns}	5.511**	7.338**	0.008**
براسینواستروئید× خشکی Brasinosteroid×Drought	3	14.514**	33588**	0.164**	5.943**	8.250**	0.004**
خطا Error	32	7.158	18197	0.072	2.657	4.334	0.002
ضریب تغییرات C.V (%)		12.71	6.44	6.75	40.21	3.62	6.45

n.s غیرمعنی‌دار، ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و * در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار است.

ns non-significant, ** significant at 1% probability level, and * significant at 5% probability level.

جدول ۳- اثر براسینواستروئید و خشکی بر صفات رویشی گیاه فلفل دلمه‌ای رقم 'Castello'

Table 3- The effect of Brassinosteroid and drought on vegetative traits of sweet pepper cv. 'Castello'

براسینواستروئید **Brasinosteroid (µM)**	طول بوته **Length shoot (cm)**	طول ریشه **Length root (cm)**	حجم ریشه **Volume root (ml)**	وزن خشک بوته **Shoot dry weight (g)**	وزن تربوته **Shoot fresh (g) weight**	وزن خشک ریشه **Root dry weight (g)**	وزن تر ریشه **Root fresh weight (g)**
0	16.28a	9.90a	2.91b	0.58a	3.04a	0.30a	2.85b
1	15.81a	9.41a	3.29a	0.63a	3.05a	0.30a	3.05a
خشکی Drought (Bar)							
0	19.16a	10.33a	3.58a	1.06a	4.27a	0.35a	3.21a
-6	14.45b	10.1ab	3.08b	0.52b	2.69b	0.32a	3.03a
-7	16.00b	9.33ab	3.00b	0.48b	2.69b	0.28b	3.02a
-8	14.58b	8.90b	2.75b	0.37b	2.52b	0.27b	2.53b

در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD اختلاف معنی‌دار ندارند.

Means with common letters in each column are no significantly different at 5% of probability level based on LSD test.

جدول ۴- اثر براسینواستروئید و خشکی بر برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه فلفل دلمه‌ای رقم 'Castello'

Table 4- The effect of Brassinosteroid and drought on physiological traits of sweet pepper cv. 'Castello'

براسینواستروئید **Brasinosteroid (µM)**	اسیدآبسیزیک **ABA ($ng.g\ RFW^{-1}$)**	پرولین **Proline ($\mu mol.g^{-1}$)**	پروتئین **Protein ($mg.g^{-1}$)**	شاخص کلروفیل **Chlorophyll Index (Spad)**	کلروفیل فلورسانس **Chlorophyll fluorescence (Fv/Fm)**
0	15.81a	0.012a	2003.7a	57.308a	0.7448b
1	16.28a	0.013a	2182a	57.808a	0.8014a
خشکی Drought (Bar)					
0	14.16c	0.018b	2125a	65.550a	0.8067a
-6	16.45b	0.0129b	2111a	60.700b	0.7813ab
-7	16b	0.020a	2071b	56.433c	0.7643ab
-8	19.58a	0.029a	2065b	47.550d	0.7402b

در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD اختلاف معنی‌دار ندارند.

Means with common letters in each column are no significantly different at 5% of probability level based on LSD test.

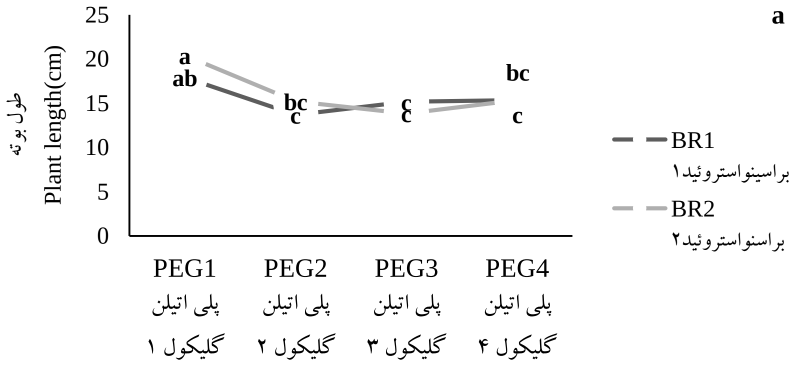
جدول ۵- اثرمتقابل کاربرد براسینواستروئید ×تنش خشکی بر ترکیبات آمینواسیدهای فلفل دلمه‌ای رقم 'Castello' (میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم)

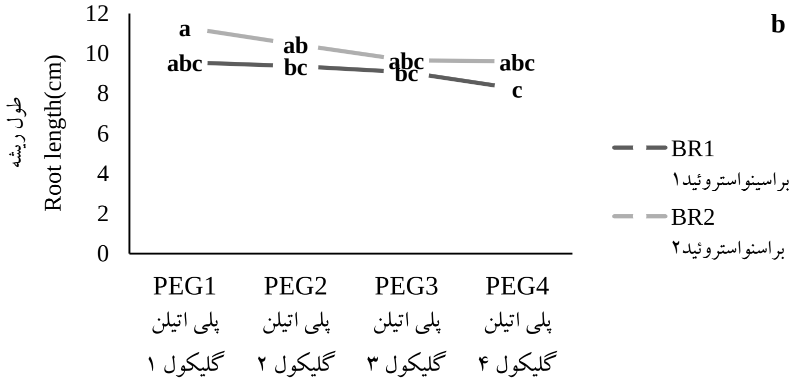
Table 5- Interaction effect of brassinosteroids ×drought stress on sweet pepper amino acids cv. 'Castello' ($mg\ .100\ g^{-1}$)

آمینواسید **Amino acid**	خشکی **Drought**		شاهد **Control**	
	Br2	Br1	Br2	Br1
آمینواسیدهای سولفوردار Sulfuric amino acids	164.45b	153.52b	263.44a	247.84a
آمینواسیدهای ضروری Essential amino acids	359.32b	326.56b	651.04a	663.03a
آمینواسیدهای غیرضروری Unnecessary amino acids	3281.21b	3126.40b	3618.64a	3161.45a
آمینواسید کل Total amino acid	4942.80ab	4507.36b	5515.84a	5028.64a

در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD اختلاف معنی‌دار ندارند.

Means with common letters in each column are no significantly different at 5% of probability level based on LSD test.



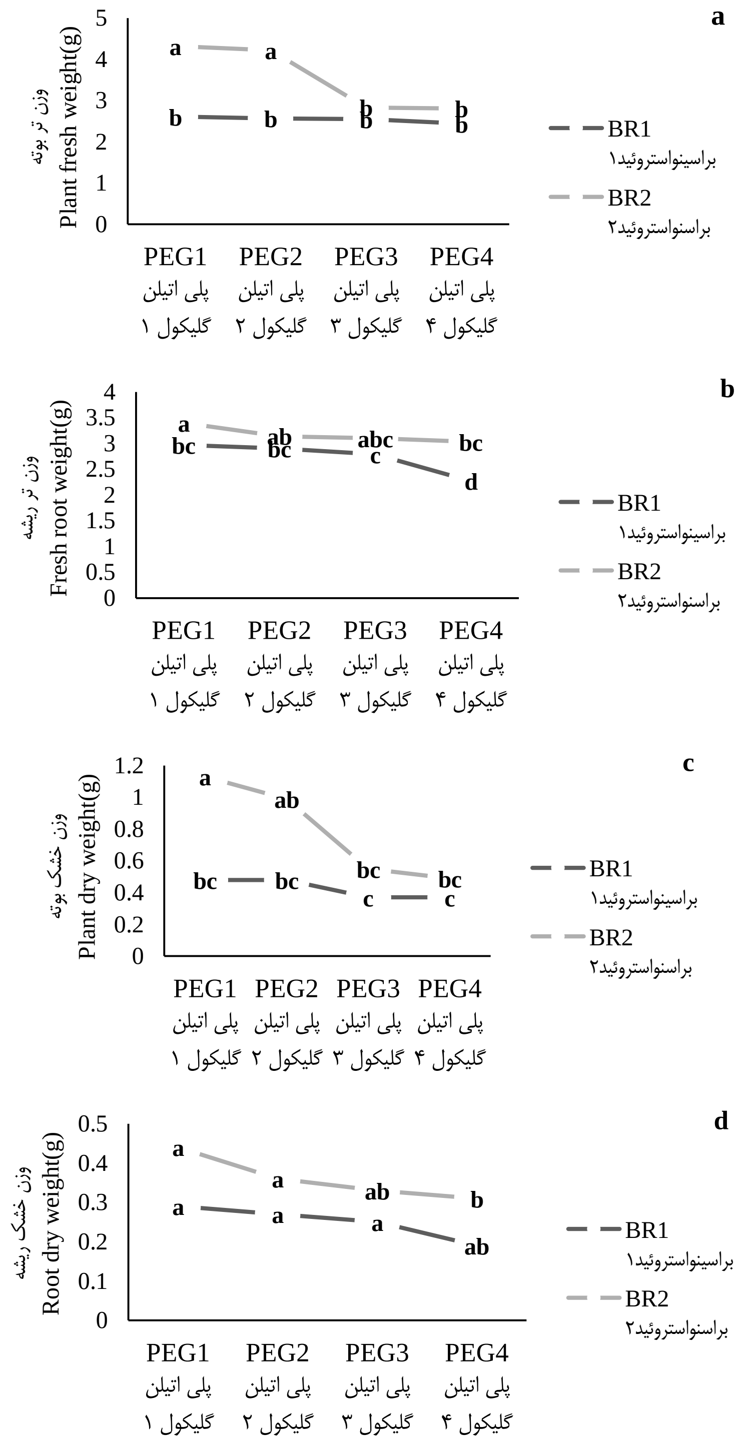


شکل ۱- اثرمتقابل کاربرد براسینواستروئید × تنش خشکی بر طول بوته (a) و طول ریشه (b) فلفل دلمه‌ای رقم 'Castello'. Br1: صفر، Br2: ۱ میلی‌گرم در لیتر براسینواستروئید، PEG1: صفر، PEG2: ۶- ، PEG3: ۷-، PEG4: ۸- بار پلی‌اتیلن گلایکول

Figure 2- Interaction effect of brassinosteroids ×drought stress on shoot length (a) and root length (b) of sweet pepper cv. 'Castello'. Br1: Zero, Br2: 1 mgl^{-1} of brassinosteroid, PEG1: Zero, PEG2: -6, PEG3: -7, PEG4: -8 Bar polyethylene glycol. (LSD, *p≤0.05*)

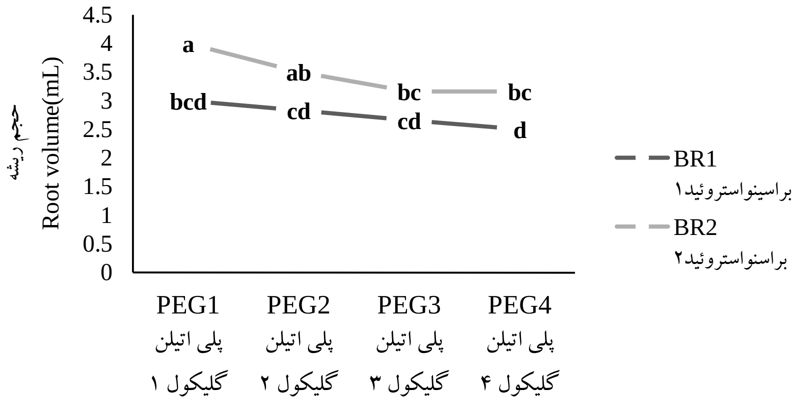
حجم ریشه روند مشابهی با وزن خشک ریشه و وزن تر آن نشان داد و با کاربرد براسینواستروئید در کلیه سطوح تنش حجم ریشه بیشتر از عدم کاربرد براسینواستروئید بود (شکل ۳).

کاهش تولید ماده خشک یکی از نتایج تنش شوری می‌باشد که به دلیل تخریب کلروفیل و کاهش فتوسنتز به وجود می‌آید. حیات و همکاران (۱۴) بیان کردند که براسینواستروئیدها تأثیر مثبتی را بر رشد گیاهان تحت تنش و شوری دارند. بهنام‌نیا و همکاران (۷) با بررسی اثر متقابل تنش خشکی و کاربرد ۲۴-اپی‌براسینولید را بر وزن تر و خشک گیاهان اسپرس نشان دادند که کمبود آب، باعث کاهش وزن تازه و خشک ساقه می‌گردد. کاربرد ۰/۰۱ و ۱ میکرومولار از ۲۴-اپی براسینولید بطور معنی‌داری وزن تازه ساقه‌ها و ماده خشک گیاه را تحت شرایط تنش و شاهد افزایش داد. وزن ماده خشک گیاه تحت شرایط تنش متوسط ۲۷ ٪ و تحت شرایط تنش شدید ۷۰ ٪ در تیمار ۱ میکرومولار از ۲۴-اپی براسینولید افزایش نشان داد. نتایج همتی و همکاران (۱۶) نشان داد که اثرمتقابل تنش خشکی و براسینواستروئید در مورد وزن خشک بوته معنی‌دار بود. وزن خشک بوته با افزایش شدت تنش کاهش یافت اما کاربرد براسینواستروئید موجب افزایش آن گردید به طوری‌که در شرایط بدون تنش و کاربرد ۷-۱۰ مولار براسینواستروئید بیشترین میزان ماده خشک بوته مشاهده شد و کمترین میزان آن به شرایط تنش و عدم کاربرد براسینواستروئید تعلق گرفت. ترکیباتی مانند براسینواستروئید که خواص آنتی‌اکسیدانی دارند (۱۳). با افزایش توانایی آنتی‌اکسیدانی گیاه توانایی کم کردن خسارت تنش خشکی را دارند، مقداری ازخسارات تنش خشکی در غشای سلول یک سدی برای تولید رادیکال‌های آزاد است. توانایی براسینواستروئید در افزایش تحمل به تنش خشکی، پایداری غشا، افزایش بیوماس، عملکرد و اجزای عملکرد توسط سایر پژوهشگران مشخص شده است (۳۱). افزایش در رشد ریشه در گیاهان تیمار شده بوسیله براسینواستروئید در مقایسه با گیاهان تیمار نشده در شرایط تنش دیده شده است (۳۲). احتمالا براسینواستروئید به دلیل تولید تنظیم‌کننده‌های اسمزی موجب دوام جذب آب از خاک به ریشه و در نتیجه حفظ آماس سلولی گردیده و درنتیجه منجر به تحریک رشد و تقسیم سلولی می‌شود زیرا لازمه تقسیم و خصوصا بزرگ شدن سلول‌ها آماس سلول است. نتایج مشابهی توسط احمدی موسوی (۱) گزارش شده است.



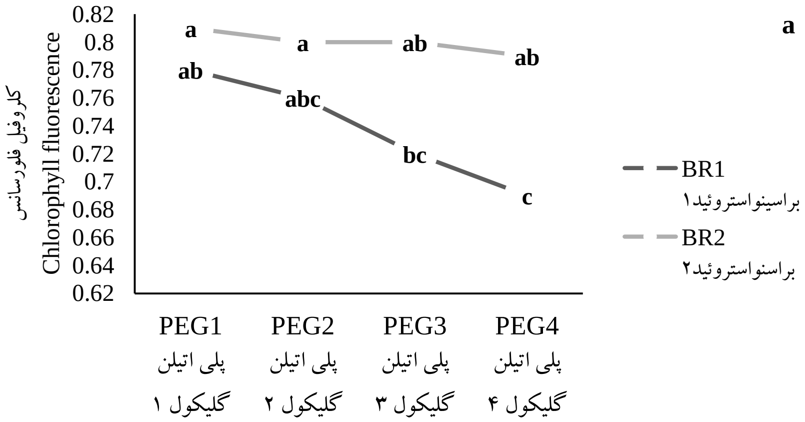
شکل ۲- اثرمتقابل کاربرد براسینواستروئید ×تنش خشکی بر وزن تر بوته (a)، وزن تر ریشه (b)، وزن خشک بوته (c) و وزن خشک ریشه (d) فلفل دلمه‌ای رقم 'Castello'. Br1: صفر، Br2: ۱ میلی‌گرم در لیتر براسینواستروئید، PEG1: صفر، PEG2: ۶- ، PEG3: ۷-، PEG4: ۸- بار پلی‌اتیلن گلایکول

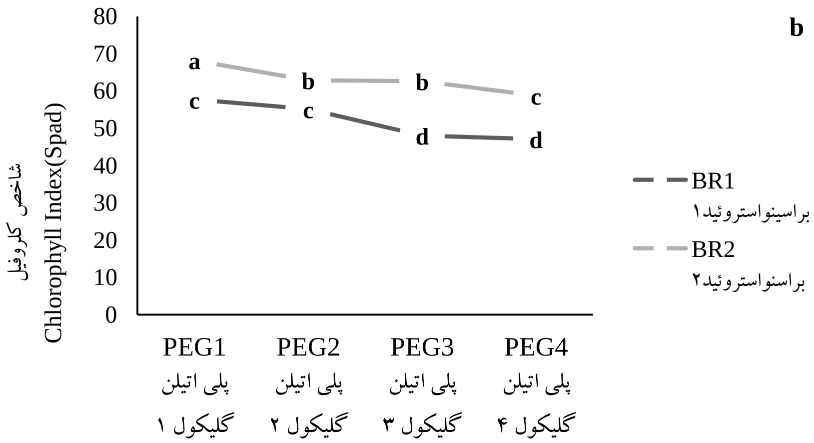
Figure 2- Interaction effect of brassinosteroids ×drought stress on shoot fresh weight (a), root weight (b), shoot dry weight (c), and root dry weight (d) of sweet pepper cv. 'Castello'. Br1: Zero, Br2: 1 mgl^{-1} of brassinosteroid, PEG1: Zero, PEG2: -6, PEG3: -7, PEG4: -8 Bar polyethylene glycol. (LSD, *p≤0.05*)



شکل ۳- اثرمتقابل کاربرد براسینواستروئید ×تنش خشکی بر حجم ریشه فلفل دلمه‌ای رقم 'Castello'. Br1: صفر، Br2: ۱ میلی‌گرم در لیتر براسینواستروئید، PEG1: صفر، PEG2: ۶- ، PEG3: ۷-، PEG4: ۸- بار پلی‌اتیلن گلایکول

Figure 3- Interaction effect of brassinosteroids ×drought stress on root volume of sweet pepper cv. 'Castello'. Br1: Zero, Br2: 1 mgl^{-1} of brassinosteroid, PEG1: Zero, PEG2: -6, PEG3: -7, PEG4: -8 Bar polyethylene glycol. (LSD, *p≤0.05*)





شکل ۴- اثرمتقابل کاربرد براسینواستروئید ×تنش خشکی بر فلورسانس کلروفیل (a) و شاخص کلروفیل (b) فلفل دلمه‌ای رقم 'Castello'. Br1: صفر، Br2: ۱ میلی‌گرم در لیتر براسینواستروئید، PEG1: صفر، PEG2: ۶- ، PEG3: ۷-، PEG4: ۸- بار پلی‌اتیلن گلایکول

Figure 4- Interaction effect of brassinosteroids ×drought stress on Chlorophyll fluorescence (a) and chlorophyll index (b) of sweet pepper cv. 'Castello'. Br1: Zero, Br2: 1 mgl^{-1} of brassinosteroid, PEG1: Zero, PEG2: -6, PEG3: -7, PEG4: -8 Bar polyethylene glycol. (LSD, *p≤0.05*)

تغییرات رنگیزه‌ای و فلورســـانس کلروفیـل گیـاه فلفـل با کاربرد براسینواستروئید در تنش خشکی

شـاخص کلروفیل و فلورسـانس کلروفیل با افزایش شـدت تنش کـاهش یافت و این کاهش در فلورســانس کلروفیل با شـــدت تنش کاهش یافت و این کاهش در فلورسانس کلروفیل با شدت بیشتری در ۷- و ۸- بار دیده شـد و کاربرد براسـینواستروئید شاخص کلروفیل در کلیه سـطوح تنش و بهبود فلورسـانس کلروفیل در شـدت‌های بالای تنش (۷- و ۸- بار) پرداخت (شکل ۴ a و b).

Fv/Fm با افزایش سطح تنش خشکی در یونجه (۳۸)، ارقام لوبیا (۵)، سیب‌زمینی (۱۲) گزارش شده است. براساس گزارش وزان (۳۶) و محمـدیـان (۳۵) تنش خشـــکی موجب کاهش عملکرد کوانتومی در ژنوتیپ‌های مختلف چغندرقند شـد. افزایش عملکرد کوانتومی نشانگر این اســـت کـه تنش‌های محیطی تأثیری بر کارایی فتوســـنتز ندارد. کاهش عملکرد فتوسیستم دو و ماکزیمم عملکرد فتوسیستم دو در نتیجه یک اثر سـاختمانی بر فتوسیستم دو و یکی از فاکتورهای اصلی مسـئول برای کاهش تدریجی در سـرعت فتوســنتز از طریق تأثیر بر کاهش در سرعت انتقال الکترون می‌باشد (۲۹). بنابراین می‌توان چنین اســـتنبـاط نمود کـه کاهش عملکرد کوانتومی به طور عمده به خاطر وجود آشـفتگی در کلروپلاست بوده و کاهش میزان محتوای کلروفیل نیز این مطلب را تـأییـد می‌کند. روند کاهشـــی Fv/Fm مربوط به افزایش Fm می‌باشد که با عملکرد کوانتوم فتوسنتز خالص همبستگی دارد. فلورسانس کلروفیل به طور مستقیم به فعالیت کلروفیل در مراکز واکنش فتوسـیسـتم‌ها ارتباط دارد و وجود هرگونه آشـفتگی منجر به کـاهش حداکثر عملکرد کوانتومی فتوســیســـتم می‌گردد (۱۵). تأثیر براسینواستروئید بر مؤلفه‌های فلورسانس به احتمال زیاد به تأثیر آن بر کلروفیل مربوط باشد. به طوری‌که با اعمال براسینواستروئید با افزایش کلروفیل منجر به کاهش F0، Fm و افزایش Fv/Fm گردیده است.

علـت کـاهش محتوای کلروفیـل با افزایش ســطح تنش کم‌آبی احتمـالا می‌توانـد بـه دلیل افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز باشـــد. از دلایـل دیگر می‌توان بـه کـاهش غلظـت کلروفیل برخی ارقام تحت تنش کم‌آبی، به علت مشـــترک بودن مســـیر بیوســـنتزی کلروفیل و آلفاتوکوفرول اشاره کرد، که گیاه در این شرایط تنش می‌تواند با توقف بیوسنتز کلروفیل، مسیر بیوسنتزی آنتی‌اکسیدان آلفا توکوفرول را فعال نماید و همچنین به دلیل تغییر مسـیر متابولیســم نیتروژن در سـاخت ترکیب‌هایی مانند پرولین باشـد که برای تنظیم اسمزی به کار می‌رود (۱۹). بنابراین می‌توان بیان نمود که گیاهانی که تحت شـــرایط تنش قرار می‌گیرنـد، محتوای کلروفیـل آنهـا تحت تأثیر قرار می‌گیرند و در بیشتر آنها محتوای کلروفیل کاهش می‌یابد. در این میان، آن دسته از گیاهانی که به کم‌آبی متحمل هســـتند؛ می‌توانند این کاهش محتوای کلروفیـل را تعـدیل کنند.گزارش مشـــابهی مبنی بر کاهش محتوای کلروفیل در اثر تنش کم‌آبی در یونجه وجود دارد (۳۸) که علت عمده آن علاوه بر موارد ذکر شده می‌تواند به دلیل پیری زودرس برگ‌ها در اثر اختلالات هورمونی ناشی از تنش کم‌آبی باشد (۱۸).

نتایج احمدی موســوی و همکاران (۲) نیز نشــان دهنده افزایش میزان کلروفیل با کاربرد براسـینواستروئید در شرایط تنش خشکی بود. به نظر می‌رسد علت افزایش کلروفیل‌ها در اثر کاربرد براسینواستروئید، افزایش مقاومت در برابر تنش اکسـیداتیو باشـد زیرا براسـینواستروئید دارای خاصـیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. به طوری‌که ازدمیر و همکاران (۲۷) بیان کردند براسـینواسـتروئید می‌تواند از خسـارت به غشـاها و ماکرومولکول‌ها جلوگیری کند.

تغییرات بیوشـــیمیایی وفیزیولوژیکی گیاه فلفل با کاربرد براسینواستروئید در تنش خشکی

میزان پروتئین در بین سـطوح مختلف تنش و براسـینواسـتروئید تفاوت چشمگیری نداشت و بیشترین مقدار آن در شرایط بدون تنش و حضـور براسینواستروئید بود اما پرولین با افزایش تنش به سطح ۷- و ۸- بار به شـدت افزایش یافت اما بین سـطوح دیگر تنش و حضـور براسـینواسـتروئید تفاوت معنی‌داری مشـاهده نشـد و میزان هورمون اسـیدآبسیزیک با شروع تنش افزایش یافت و بین سطوح ۷- و ۸- بار تفاوت معنی‌داری دیده نشـد. کاربرد براسـینواسـتروئید باعث کاهش سطح اسیدآبسیزیک در سطح ۶- بار و سطح تنش ملایم شد اما باعث افزایش سطح اسیدآبسیزیک خصوصا در تنش ۷- بار شد (شکل ۵ a و b).

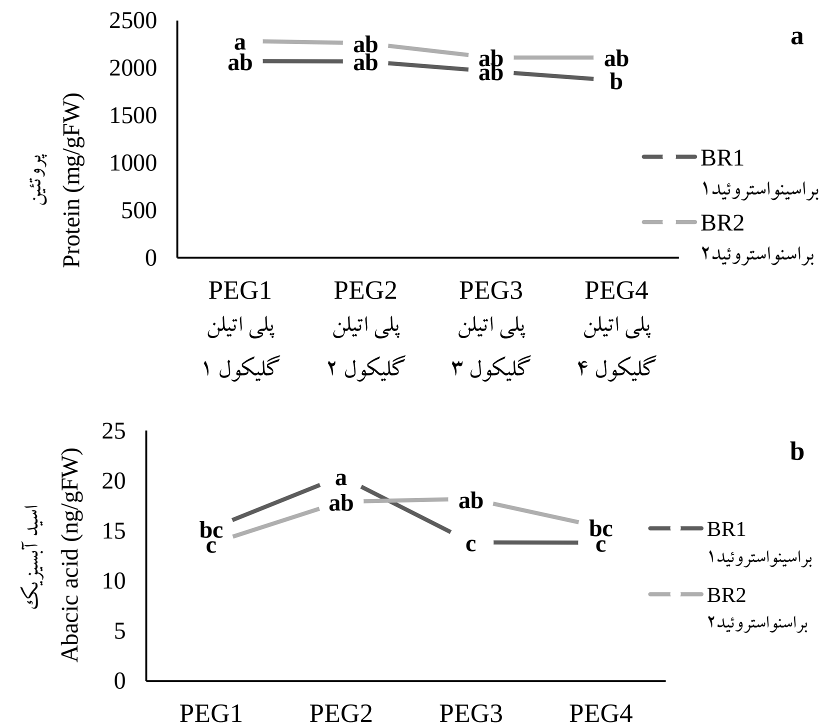
افزایش پرولین بـا تنش کم‌آبی ممکن اســت در نتیجـه کـاهش کلروفیل باشـد، چرا که پیش ماده هر دو گلوتامات اسـت این احتمال وجود دارد که گیاه برای دوام جذب آب با تخریب کلروفیل و آزادسازی پیش ماده پرولین به بقای گیاه کمک کند؛ زیرا در شرایط تنش، بقای گیاه از اهمیت بیشـتری نسبت به رشد گیاه برخوردار است. مشابه این اسـتدلال توسط متوس و اندرسوننیز گزارش شده است (۲۲). افزایش پرولین با اعمال براسـینواسـتروئید توسـط احمدی موسوی (۲) نیز، در شـرایط تنش خشکی مشاهده شده است. در نتایج آزمایش‌هایی که در آنها براسـینواسـتروئید اسـتفاده شـده، افزایش تولید پرولین در تنش شـوری گزارش شده است (۳۴). افزایش پرولین منجر به حفظ تورم و کاهش خسـارت غشاء در گیاهان می‌شود، بدین ترتیب با روش تنظیم اســمزی تحمل به تنش کم‌آبی افزایش می‌یابد(۲۸). کاهش پروتئین محلول در اثر تنش کم‌آبی در یونجه نیز گزارش شـده اسـت (۳۸). با توجه به اینکه روبیســکو مهمترین و فراوان‌ترین پروتئین برگ اسـت، هر گونه کاهش در غلظت پروتئین‌های محلول منجر به کاهش غلظت

روبیسکو شده و این امر کاهش میزان فتوسنتز را در پی خواهد داشت. تأثیر اختلاف اعمال و عدم اعمال براسینواستروئید در کلروفیل نیز احتمالاً ناشی از افزایش پروتئین محلول می‌باشد و افزایش پروتئین محلول شاید ناشی از جذب آب توسط تولید پرولین باشد که با حفظ آماس سلولی و جذب آب منجر به تقسیم سلولی و حفظ کلروفیل می‌شود. از طرف دیگر همراه با جذب آب، مواد غذایی از جمله نیتروژن نیز می‌تواند جذب گیاه شده و باعث تولید پروتئین محلول شود. خشکی با ایجاد تنش کمبود عناصر غذایی در گیاه، موجب اختلال در روند جذب و تجمع عناصر غذایی شده و در نتیجه باعث کاهش عملکرد گیاه می‌شود (۹).

بای‌پلات: نتایج آنالیز بای پلات داده‌ها نشان داد که در شرایط عدم تنش در حضور و عدم حضور براسینواستروئید صفات رویشی و پروتئین از میانگین بهتری برخوردار بود و در شدت تنش بالا و کاربرد براسینواستروئید وزن تر ریشه و میزان اسیدآبسیزیک را بیش از سایر صفات تحت تاثیر قرار داد در حالی‌که در تنش ملایم به نظر می‌رسد براسینواستروئید کاراتر عمل کرد و بیشتر صفات رویشی و فیزیولوژیک همانند حالت شاهد در وضعیت بهتری بود (شکل ۶).

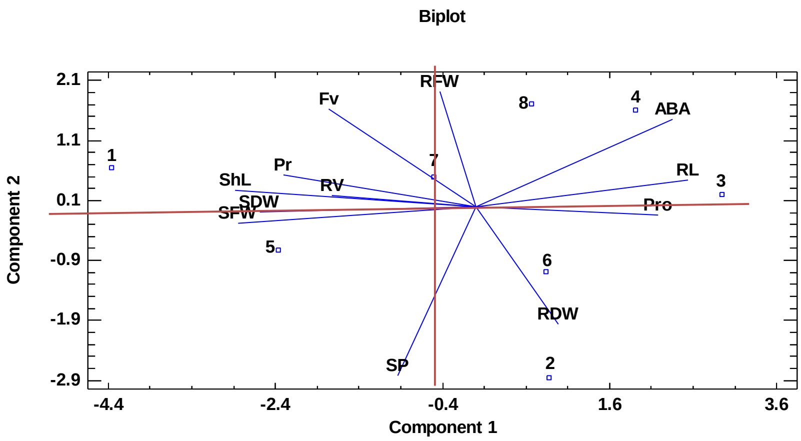
نتیجه‌گیری

فلفل از گیاهان حساس به تنش خشکی است از طرفی با توجه به نقش موثر براسینواستروئیدها بر بهبود عملکرد و کیفیت گیاهان و افزایش مقاومت به تنش‌ها و نتایج حاصل از این آزمایش به نظر می‌رسد کاربرد براسینواستروئید باعث بهبود اثرات منفی تنش خشکی ملایم در صفات رویشی خصوصاً ریشه می‌شود و با افزایش شدت تنش این هورمون بر صفات فیزیولوژیک موثرتر است میزان پرولین و هورمون آبسیزیک‌اسید به عنوان شاخص‌های تنش در میزان تنش شدید خشکی تغییرات چشم‌گیری دارد.



شکل ۵- اثرمتقابل کاربرد براسینواستروئید ×تنش خشکی بر پرولین (a)، پروتئین (b)، واسیدآبسیزیک (c) فلفل دلمه‌ای رقم 'Castello'، Br1: صفر، Br2: ۱ میلی‌گرم در لیتر براسینواستروئید، PEG1: صفر، PEG2: ۶- ، PEG3: ۷-، PEG4: ۸- بار پلی‌اتیلن گلایکول

Figure 5- Interaction effect of brassinosteroids ×drought stress on proline (a), protein (b), and Abscisic acid (c) of sweet pepper cv. 'Castello'. Br1: Zero, Br2: 1 mgl-1 of brassinosteroid, PEG1: Zero, PEG2: -6, PEG3: -7, PEG4: -8 Bar polyethylene glycol. (LSD, *p≤0.05*)



شکل ۶- نمودار بای‌پلات در ۸ تیمار آزمایش براساس صفات مورد مطالعه فلفل دلمه‌ای رقم 'Castello' تحت تنش شوری

۱: صفر میلی‌گرم براسینواستروئید و صفر بار پلی‌اتیل گلایکول (شاهد)، ۲: صفر میلی‌گرم براسینواستروئید و ۶- بار پلی‌اتیلن گلایکول (خشکی ملایم)، ۳: صفر میلی‌گرم براسینواستروئید و ۷- بار پلی‌اتیلن گلایکول (خشکی متوسط)، ۴: صفر میلی‌گرم براسینواستروئید و ۸- بار پلی‌اتیلن گلایکول (خشکی شدید)، ۵: یک میلی‌گرم براسینواستروئید و صفر بار پلی‌اتیلن گلایکول (براسینواستروئید)، ۶: یک میلی‌گرم براسینواستروئید و ۶- بار پلی‌اتیلن گلایکول (خشکی ملایم همراه براسینواستروئید)، ۷: یک میلی‌گرم براسینواستروئید و ۷- بار پلی‌اتیل گلایکول، ۸: یک میلی‌گرم براسینواستروئید (خشکی متوسط همراه با براسینواستروئید) و ۸- بار پلی‌اتیلن گلایکول (خشکی شدید همراه با براسینواستروئید).

ShL: طول بوته، RL: طول ریشه، RV: حجم ریشه، SFW: وزن تر شاخساره، RFW: وزن تر ریشه، SDW: وزن خشک شاخساره،RDW: وزن خشک ریشه، Fv: کلروفیل فلورسانس، SP: شاخص سبزینگی، Pr: پرولین، Pro: پروتئین، ABA: اسیدآبسیزیک

Figure 6 - Biplot plot in 8 treatments based on traits of sweet pepper cv. 'Castello' under salinity stress

ShL: Plant length, RL: Root length, RV: Root volume, SFW: Shoot fresh weight, RFW: Root fresh weight, SDW: Shoot dry weight, RDW: Root dry weight, Fv: Chlorophyll fluorescence, SP: vVgetative index, Pr : Proline, Pro: Protein, ABA: Abscisic acid

منابع

1- Ahmadi Mousavi E., Kalanti KH., and Torkzadeh M. 2005. Effects of epibrassinolide on lipid peroxidation, prolin, sugar and photosynthesis pigments content of canola (*Brassica napus* L.) under water stress. Iranian Journal of Biology 18(4): 295-306. (In Persian with English abstract)

2- Ahmadi Mousavi E., Manoukhehri Kalantari KH., and Torkzadeh M. 2005. Effects of 24-epibrassinolide on lipid peroxidation, prolin, sugar and photosynthesis pigments content of colza (*Brassica napus* L.) under water stress. Iranian Journal of Botany 18(4):295-306. (In Persian with English abstract)

3- Ananthi M., Sasthri G., and Srimathi P. 2013. Integrated seed and crop management techniques for increasing productivity of greengram cv. CO_6. International Journal of Scientific Research 2(11): 37-38.

4- Bajgaz A., and Hayat S.H. 2009. Effect of brassinosteroids on the plant responses to environmental stress. Plant Physiology and Biochemistry 47: 1-8.

5- Basu P., Ashoo S., and Sukumaran N. 1998. Changes in net photosynthetic rate and chlorophyll fluorescence in potato leaves induced by water stress. Photosynthetic 19: 13-35.

6- Bates L.S., Waldarn R.P., and Teare I.P. 1973. Rapid determination of free proline for water studies. Plant Soil 39:205-208.

7- Behnamnia M., Kalantari K.M., and Rezanejad F. 2009. Exogenous application of brassinosteroid alleviates drought-induced oxidativestress in *Lycopersicon esculentum* L. General and Applied Plant Physiology 35(1–2): 22–34.

8- Bradford M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistr 72: 248-254.

9- Chogan R. 2004. Modified corn for tolerance of drought and nitrogen stresses. Agriculture department publication p. 95. (In Persian with English abstract)

10- Clous Steven D. and Sasse M. 1998. Brassinosteroids: essential regulators of plant growth and development. Annual Reviews 49: 427-451.

11- Flexas J., Ribas-Carbo M., Hanson D.T., Bota J., Otto B., Cifre J., McDowell N., Medrano H., and Kaldenhoff R.

2006. Tobacco aquaporin NtAQP1 is involved in mesophyll conductance to CO_2 in vivo. Plant Journal 48: 427-439.
12- Ghanbari A.A., Shakiba M.R., Toorchi M., and Choukan R. 2013. Morpho-physiological responses of common bean leaf to water deficit stress. European journal of experimental biology 3(1): 487-492.
13- Haubrick L.L., Torsethaugen G., and Assmann S.M. 2006. Effect of brassinolide, alone and in concert with abscisic acid, on control of stomatal aperture and potassium currents of *Vicia faba* guard cell protoplasts. Plant Physiology 128: 134–143.
14- Hayat S., Hasan S.A., Yusuf M., Hayat Q., and Ahmad A. 2010. Effect of homobrassinolide on photosynthesis, fluorescence and antioxidant system in the presence or absence of salinity and temperature in *Vignaradiata*. Environmental and Experimental Botany 69: 105–112.
15- Hayat S.H., and Aqil A. 2011. Brassinosteroids: a class of plant hormone. In: P. Krishna, editor, UK Divi.
16- Hemmati K., Ebadi A., Khamari S., and Sedghi M. 2018. Response of evergreen plant (*Calendula officinalis* L.) to ascorbic acid and brassinosteroids under drought stress. Journal of Crop Ecophysiology 12(2): 191-210. (In Persian with English abstract)
17- Hmida-Sayari A., Gargouri-Bouzid R., Bidani A., Jaoua L., Savoure A., and Jaoua S. 2005. Overexpression of D1-pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers salt tolerance in transgenic potato plants. Plant Science 169:746-752.
18- Kafi M. 2000. Mechanisms of resistance to environmental stresses in plants. Publishers of Mashhad Ferdowsi University, p. 309. (Translated in Persian)
19- Kaya C., Higgs D., and Kernak H. 2001. The effects of high salinity (NACL) and supplementary phosphorus and potassium on physiology and nutrition development of Spanish. Plant Physiology Journal 27: 47-59.
20- Li K., and Feng C.H. 2011. Effects of brassinolide on drought resistance of Xanthoceras sorbifolia seedlings under water stress. Acta Physiologiae Plantarum 33(4): 1293-1300.
21- Manivannan P., Jaleel C.A., Somasundaram R., and Panneerselvam R. 2008. Osmoregu-lation and antioxidant metabolism in drought-stressed Helianthus annuus undertriadimefon drenching. Comptes Rendus Biologies 331: 418-425.
22- Matthews M.A., and Anderson M.M. 1988. Fruit ripening in *Vitisvinifera* L.: Responses to seasonal water dificits. American Journal of Enology and Viticulture 39(4): 313-320.
23- Meudt W.J., Thompson M.J., and Bennett H.W. 1983. Investigations on the mechanism of brassinosteroides response. Plant Growth Regulators Society of American 10: 312-318.
24- Meudt W.J., Thompson M.J., Mandava, N.B., and Worley, J.F. 1984. Method for promoting plant growth. USA: Can Patent Press.
25- Mohammadian R., Rahimian H., Moghaddam M., and Sadeghian S.Y. 2003. Effect of early drought stress on sugar beets chlorophyll fluorescence. Pakistan Journal ofBiological Sciences 6(20): 1763-1769.
26- Nahar Sh., Sahoo L., and Tanti B. 2018. Screening of drought tolerant rice through morphophysiological and biochemical approaches. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 15: 150-159.
27- Ozdamir F., Bor M., Demiral T., and Turkan I. 2004. Effects of 24-epibrassinolide on seed germination, seedling growth, lipid peroxidation, proline content and antioxidative system of rice (*Oriza sativa* L.) under salinity stress. Plant Growth Regulation 42: 203-211.
28- Pandey R., and Agarwal R.M. 1998. Water stress-induced change in proline contents and nitrat reductase activity in rise light and dark condition. Physiology and Molecular Biology of Plants 4: 53-57.
29- Prins C.S., Vieira I.J.C., and Freitas S.P. 2010. Growth regulators and essential oil Production. Brazilian Socity of Plant Physiology 22(2): 91-102.
30- Rahnama H., Vakilian H., Fahimi H., and Ghareyazie B. 2011. Enhanced salt stress tolerance in transgenic potato plants (*Solanum tuberosum* L.) expressing a bacterial mtlD gene. Acta Physiology Plant 33: 1521–1532.
31- Sairam R.K. 1994. Effects of homobrassinolide application on plant metabolism and grain yield under irrigated and moisture-stress conditions of two wheat varieties. Plant Growth Regulation 14: 173-181.
32- Schilling G., Schiller C., and Otto S. 1991. Influence of brassinosteroids on organ relations and enzyme activities of sugar-beet plants Brassinosteroids. Chemistry, Bioactivity and Applications 474: 208-219.
33- Sengupta K., Banik N.C., Bhui S., and Mitra S. 2011. Effect of brassinolide on growth and yield of summer green gram crop. Journal of Crop and Weed 7(2): 152-154.
34- Shahid M.A., Pervaz M.A., Balal R.M., Mattson N.S., Rashid A., Ahmad R., Ayyub C.M., and Abbas T. 2011. Brassinosteroid (24-epibrassinolide) enhances growth and alleviates the deleterious effects induced by salt stress in pea (*Pisum sativum* L.). AJCS 5(5): 500-510.
35- Tang L., Kim M.D., Yang K.S., Kwon S.Y., Kim SH., Kim J.S., Yun D.J., Kwak S.S., and Lee H.S. 2008. Enhanced tolerance of transgenic potato plants overexpressing nucleoside diphosphate kinase 2 against multiple environmental stresses. Transgenic Research 17: 705–715.

36- Vazan S., Ranji Z., Tehrani M., Ghalavand A., and Saaneyi M. 2002. Drought stress effects of on ABA accumulation and stomatal conductivity of sugar beet, Journal of Agriculture 3: 176-180. (In Persian with English abstract)

37- Zullo M., and Adam A.T. 2002. Brassino-steroid phytohormones, structure, bioactivity and applications. Journal of Plant Physiology 14: 83-121.

38- Zafari M., Ebadi A., and Jahanbakhsh S. 2012. Effect of mycorrhiza on water deficit resistance in alfalfa. Master thesis. University of Mohaghegh Ardabili 99 p. (In Persian with English abstract)

Journal of Horticultural Science
Vol. 35, No.3, Fall 2021, P. 367-381
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۰، ص. ۳۸۱-۳۶۷
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

The Effect of Foliar Spray of Brassinosteroid on Sweet Pepper (C*apsicum annuum* L.) Seedling under Drought Stress

S. Khosravi[1]*- M. Haghighi[2]
Received: 25-04-2020
Accepted: 13-10-2020

Introduction: Brassinosteroids promote plant growth by enhancing some metabolic activities such as photosynthesis, nucleic acid biosynthesis, proteins and carbohydrates. Mechanisms of resistance and tolerance in plants have been developed to tolerate water deficit stress. One way to deal with drought is to use plant growth regulators. Brassinosteroids were first extracted from the pollen of turnip (*Brassica napus*) and were considered as the sixth group of plant growth regulators. These compounds stimulate growth and cell division and affect electrical properties, membrane permeability, stability and activity of membrane enzymes. Nowadays, brassinosteroids have been extracted from various plants and their structure and function have been identified.

Materials and Methods: This experiment was conducted in a factorial experiment based on a completely randomized design on *Capsicum annuum* L. Castello cultivar under the average daily temperature of 25 °C and 18 °C at 75% relative humidity in greenhouses. Research conducted by the College of Agriculture, Isfahan University of Technology, with four drought treatments using polyethylene glycol 6000 solutions at four levels of 0, -6, -7, and -8 bar. Brassinosteroids were sprayed in two 1 µM control levels. Pepper seeds planted in transplanting trays containing 1 to 2 volumes perlite and vermiculite substrate. When the actual leaf of seedlings appeared, the root thoroughly rinsed with distilled water and then were transferred to black plastic containers with a diameter of 16 and height 13cm and 1L volume containing Johnson's nutrient solution including four dry treatments using 6000 polyethylene glycol solution and aerated in control for 15 minutes every 5 minutes. At the end of the experiment, vegetative factors such as fresh and dry weight of different parts of the plant, plant length, and volume, and physiological factors such as proline and abscisic acid content and chlorophyll fluorescence changes were measured.

Results: The results of the analysis of variance table showed that brassinosteroid had no significant effect on most vegetative traits except root volume and weight and all physiological traits except chlorophyll fluorescence and the mentioned traits increased with the application of 1 mM brassinosteroid. However, the main effects of drought except for amino acid and the interaction of drought and brassinosteroids were significant on all traits. The results of the main drought effects showed that the root fresh weight at -8 bar and dry weight at -7 bar significantly decreased, whereas fresh and dry weight of the shoots at lower than -6 bar. The onset of decline showed that the root length and volume appeared to decrease with the onset of stress by -6 bar and the plant length also reduced with the first stress level. Drought stress at -6 bar level decreased chlorophyll fluorescence, chlorophyll index and Abscisic acid while at -7 bar decreased protein and increased proline. The results also showed that the amount of sulfuric, essential and unnecessary amino acids were significantly reduced by drought stress and brassinosteroid had no effect. Total amino acid content decreased with drought stress but there was no significant difference with control. With increasing drought stress, the fresh and dry weights of shoots decreased and the intensity of shoots decreased. The intensity of shoot growth decreased with the use of brassinosteroids at moderate stress but the mentioned trait showed the same adverse effects at all levels of stress. Brasinosteroid application decreased stress indices such as proline (7%) and abscisic acid (50%) and this decrease was more pronounced in proline, especially in more severe treatments. Amino acid and protein levels decreased with drought stress, and the use of brassinosteroids could not be effectively affected by this reduction, especially for the compounds and the amount of amino acids.

The results of biplot analysis showed that the vegetative and protein traits had better mean in stress condition in the presence and absence of stress and in higher stress severity and application of brassinosteroid affected root fresh weight and abscisic acid content more than the other traits. While in mild stress it seemed to be more effectively on the steroid and most of the vegetative and physiological traits than the control.

Conclusion: It seems that the application of brassinosteroids on pepper seedling in drought stress at a

1 and 2- Former M.Sc. Student and Associate Professor Department of Horticulture, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, respectively.
(*- Corresponding Author Email: saeedkhosravi0938@gmail.com)
DOI: 10.22067/jhs.2021.61838.0

concentration of 1 µM is effective in maintaining vegetative properties and reducing negative effects of stress and reducing stress indices.

Keywords: Abscisic acid, Amino acid, Chlorophyll fluorescence, Growth regulators